

ACTION COMPARÉE DE DIVERSES RADIATIONS  
MONOCHROMATIQUES SUR LA RÉGÉNÉRATION  
ET LE DÉVELOPPEMENT DES PROTOPLASTES DE  
*CAESPITELLA PASCHERI* ET DE *DRAPARNALDIA MUTABILIS*  
(CHAETOPHORALES, CHLOROPHYTA)

M. LARPENT-GOURGAUD\* et M.P. AUMAÎTRE\*

RÉSUMÉ. — Les protoplastes de deux Chaetophorales, *Caespitella pascheri* Vischer et *Draparnaldia mutabilis* (Roth) Cedergr., sont cultivés sous différentes radiations : bleues (440 nm  $\pm$  10 nm), rouges (660 nm  $\pm$  10 nm), jaunes (590 nm) et sous lumière blanche. Quelque soit la nature de l'éclairement les protoplastes régénèrent. Sous des éclaircements blanc ou rouge, les régénérats donnent naissance à des thalles. Au contraire, sous le jaune seuls les protoplastes de *Caespitella* engendrent un thalle. En lumière bleue aucun des protoplastes des deux espèces n'est capable de donner naissance à un organisme normal.

ABSTRACT. — The protoplasts of two Chaetophorales, *Caespitella pascheri* Vischer and *Draparnaldia mutabilis* (Roth) Cedergr., are irradiated under blue (440 nm  $\pm$  10 nm) yellow (590 nm  $\pm$  10 nm), red (660 nm  $\pm$  10 nm) radiations and under white light. Under white and red lights, the protoplasts generate rapid growth thallus. On the contrary, under yellow radiations, only the *Caespitella* protoplasts regenerate a thallus. Under blue light the protoplasts of two species do not product a thallus.

MOTS CLÉS : *Caespitella*, *Draparnaldia*, protoplastes, régénération, croissance, radiation.

### INTRODUCTION

L'obtention de protoplastes n'a été possible jusqu'à présent que chez un nombre restreint d'algues vertes ou rouges. Nous avons pu en isoler récemment chez *Draparnaldia mutabilis* (Roth) Cedergr. (Larpent-Gourgau & Aumaître, 1987). L'application de notre méthode au genre *Caespitella*, Chaetophorale à croissance apicale (Larpent-Gourgau *et al.*, 1971) par opposition au *Draparnaldia* à croissance intercalaire, donne d'excellents résultats. L'étude de leur régénération et la production de thalles filamenteux est une étape dans la compréhension de la mise en place de la polarité cellulaire et de la localisation intra-

\* Laboratoire de Phytomorphogénèse U.A. 45 - 4 et 6 rue Ledru, 63038 Clermont-Ferrand Cedex.

cytoplasmique d'enzymes directement impliquées dans la morphogénèse.

Les travaux de Larpent & Jacques (1973), Zeghal (1987) témoignent de l'exigence des algues vis-à-vis de la durée de l'éclairement et du rôle essentiel de la qualité de la lumière sur leur croissance. Ainsi les lumières blanche et bleue permettent une meilleure croissance en longueur des filaments, que les lumières jaune et rouge après deux semaines de cultures.

Un suivi de la régénération des protoplastes et de la croissance dans les mêmes conditions était donc intéressant.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

*Draparnaldia mutabilis* est cultivé en culture axénique sur un substrat liquide organique (B.E.) à base d'extrait de viande et de bacto-peptone (Larpent & Jacques, 1973) gélosé à 15 p. 1000. Les souches axéniques de *Caespitella pascheri* Vicher se développent sur milieu de Bischoff & Bold (1963) gélosé à 15 p. 1000. Les protoplastes sont obtenus suivant la technique mise au point par Larpent-Gourgaud & Aumaître (1987) puis mis en culture en cellules de Van Tieghem.

L'éclairement ( $23 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) blanc est fourni par des tubes fluorescents de type «blanc industrie». Les éclaircements rouges ( $660 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ ) et bleus ( $440 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ ) sont donnés par des tubes «T.L. fluorescent coloured» Philips. La lumière jaune ( $590 \text{ nm}$ ) est obtenue à l'aide d'une lampe à vapeur de sodium basse pression Mazda. La photopériode est de 18 heures sur 24 heures, la température de  $18 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

## RÉSULTATS

Pour les deux algues étudiées, en lumière blanche les protoplastes régénèrent des thalles dont la morphologie est comparable à celle obtenue par bouturage de filaments (Ducher *et al.*, 1975; Zeghal, 1987).

Il est à remarquer que la lumière blanche, comme cela a déjà été souligné par Larpent-Gourgaud & Aumaître (1977) sur le protonéma des Bryophytes « des effets morphogénétiques tout à fait différents selon l'équilibre spectral. Ainsi la lumière, dite «blanc industrie» permet la croissance des thalles alors que le «blanc brillant de luxe» l'inhibe totalement. La comparaison des spectres d'émission montre que la lumière émise par les tubes fluorescents «blanc industrie» est très pauvre (4 %) en rouge clair ( $\lambda = 660 \text{ nm}$ ). Ces radiations sont au contraire présentes à raison de 11 % pour les tubes «blanc brillant de luxe».

Un éclairciment rouge conduit dans le cas de *Draparnaldia* à la formation d'un thalle dont la vitesse de croissance (Figure 1) est inférieure à 30 % ( $24 \pm 2 \mu\text{m}/24\text{h}$ ) par rapport à celle mesurée dans le cas d'un éclairciment blanc ( $36 \pm 5 \mu\text{m}/24\text{h}$ ). La taille des cellules est comparable:  $18 \pm 3 \mu\text{m}$  contre  $16 \pm 2 \mu\text{m}$ . Dans

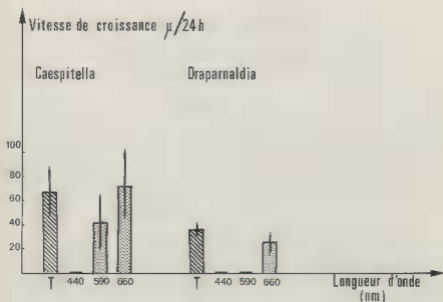


Fig. 1 — Action de la longueur d'onde sur la vitesse de croissance du thalle de *Caespitella pascheri* et de *Draparnaldia mutabilis*.

les deux cas la ramification est pratiquement inexistante. La morphologie des filaments obtenus à partir des protoplastes est donc comparable à celle des thalles provenant des boutures de filaments (Ducher, 1987). Chez le *Caespitella* les résultats sont identiques (Figure 1). Le développement du thalle est toutefois deux fois plus rapide et la vitesse de croissance atteint  $66 \pm 10 \mu\text{m}/24\text{h}$  contre  $72 \pm 8 \mu\text{m}/24\text{h}$  dans le rouge.

Sous une irradiation jaune, les protoplastes de *Draparnaldia* régénèrent : le tube germinatif peut atteindre jusqu'à  $200 \mu\text{m}$ , mais n'initie jamais de thalle (Figure 1). Chez cette algue, cette radiation s'est montrée défavorable à la croissance des boutures de thalles en fonction de la durée d'exposition. Zeghal (1987) a en effet montré qu'après 6 semaines de culture, les plastes se désorganisent et dégèrent. De même Calvayrac & Ledoigt (1976) signalent chez l'euglène, exposé à cet éclairage, la formation de plages de dégénérescence à l'extrémité des thylacoïdes. Dans ces conditions, le *Caespitella*, au contraire, édifie un thalle, mais plus lentement qu'en lumière blanche ou rouge (la vitesse de croissance est égale à  $42 \mu\text{m}$  au lieu de  $66 \mu\text{m}/24\text{h}$ ).

Enfin en lumière bleue, seul un faible pourcentage de protoplastes se divise au maximum deux fois pour engendrer un tube germinatif qui ne s'allongera pas au-delà de  $50 \mu\text{m}$ . Il faut noter toutefois que les protoplastes de *Draparnaldia* beaucoup plus sensibles que ceux de *Caespitella* à cette longueur d'onde se lysent en très grand nombre.

## DISCUSSION - CONCLUSION

De ces expériences il ressort que la régénération des protoplastes et l'édification d'un thalle répondent comme deux systèmes distincts vis-à-vis des lumières monochromatiques.

Le premier système, indépendant de la qualité de la lumière, permet la synthèse de la paroi des protoplastes et sa structuration, la division en deux cellules filles morphologiquement différentes et de taille inégale à partir de la cellule nouvellement reconstituée. La mise en place de la polarité du développement, c'est-à-dire l'isolement de la cellule apicale se réalise quelque soit la nature de l'éclairement, avec toutefois une restriction dans le cas du bleu. Ces résultats se rapprochent de ceux rapportés par Ishizawa *et al.* (1979) sur la régénération des fragments de protoplasmes de *Boergeresia*. Chez cet organisme la lumière rouge (625 nm) stimule fortement (60 %) le pourcentage de germination alors que le bleu provoque une légère inhibition.

Le deuxième système, c'est-à-dire le fonctionnement de la cellule apicale, responsable de l'édification du thalle est fonction de la nature de l'éclairement, comme cela a été mis en évidence par Wada & Furuya (1970) qui ont démontré l'inhibition par les radiations bleues de la germination des spores d'*Adiantum* (ptéridophytes). Dans notre cas chez une algue à croissance strictement apicale comme *Caespitella*, seul le bleu ne permet pas la division de la cellule apicale. Pour *Draparnaldia* à croissance intercalaire, le bleu et le jaune bloquent les mitoses.

Il reste à démontrer que les radiations bleues ont réellement une fonction inhibitrice. Des expériences de double irradiation, avec supplémentation par des éclaircements rouges, permettront d'apporter une réponse. L'action inhibitrice particulière du bleu sur la formation des thalles à partir de protoplastes en voie de régénération demande à être analysée en relation avec nos connaissances actuelles concernant le cryptochrome.

## BIBLIOGRAPHIE

- BISCHOFF H.W. & BOLD H.C., 1963 — Phycological studies. IV - Some soil algae from enchanted Rock and related algal species. *Univ. Texas Publ.* 6318 : 1-95.
- CALVAYRAC R. & LEDOIGT G., 1976 — Croissance des Euglènes en présence du métabolisme photosynthétique en réponse aux variations du milieu chez des végétaux de type C<sub>3</sub>. *Agronomie* 2 : 429-436.
- DUCHER M., 1987 — *Rôle de la lumière sur la morphogenèse et le métabolisme de Draparnaldia mutabilis (Roth) Cederg.* Thèse Doctorat d'Etat, Clermont II.
- DUCHER M., LARPENT-GOURGAUD M. & LARPENT J.P., 1975 — La notion de photopériodisme chez trois Chlorophycées et une Rhodophycée. *Nova Hedwigia* 26 : 373-383.

- ISHIZAWA K., ENOMOTO S. & WADA S., 1979 – Germination and photo-induction of polarity in the spherical cells regenerated from protoplasm fragments of *Boergeresia forbesii*. *Bot. Mag. (Tokyo)* 92 : 173-186.
- LARPENT J.P. & JACQUES R., 1973 – Influence de la durée de l'éclairement sur la croissance du thalle de quelques algues (trois Chaetophorales et une Rhodophycée). *Pl. Sci. Lett.* 1 : 339-347.
- LARPENT-GOURGAUD M. & AUMAITRE M.P., 1977 – Action de l'orientation et de la qualité de la lumière sur le développement des protonémas de bryales. *Experientia* 33 : 1601-1603.
- LARPENT-GOURGAUD M. & AUMAITRE M.P., 1987 – Production et régénération de protoplastes chez *Draparnaldia mutabilis* (Chaetophorales, Chlorophyta). *Cryptogamie, Algol.* 8 : 101-106.
- LARPENT-GOURGAUD M., LARPENT J.P. & JACQUES R., 1971 – Action de la lumière sur la croissance des thalles de *Caespitella pascheri* Vischer, du *Draparnaldia mutabilis* (Roth) Cederg., et du *Stigeoclonium farctum* Berthold. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 274 D : 2988-2991.
- ZEGHAL M., 1987 – Contribution à l'étude du rôle de la lumière sur le développement du thalle de *Draparnaldia mutabilis* (Roth) Cederg. Thèse Docteur Ingénieur. Clermont II.
- WADA M. & FURUYA M., 1970 – Photocontrol of the orientation of cell division in *Adiantum*. I. Effects of the dark and red periods in the apical cell of gametophytes. *Developm. Growth and Differentiation* 12 : 109-118.